

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук Нургазиевой Асел Рысбековны на диссертационную работу Жугунисова Куандыка Даулетбаевича на тему «Совершенствование средств профилактики и технологии приготовления вакцины против блутанга», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06–биотехнология.

Актуальность темы диссертации

Блутанг (катаральная лихорадка овец) – вирусная, трансмиссивная болезнь жвачных животных, которая передаётся кровососущими насекомыми рода *Culicoides*. Это заболевание представляет собой значительную социально-экономическую проблему в сфере международной торговли животными и животноводческими продуктами.

Блутанг актуален и для Центральной Азии, так как согласно данным литературы имеются сообщения о выделении серопозитивных проб от животных в России, Казахстане, Кыргызстане и Таджикистане. Как известно наличие серопозитивных проб является признаком циркуляции вируса среди животных.

Для предотвращения дальнейшего распространения блутанга одним из наиболее важных и сложных вопросов в системе противозoonотических мероприятий, является специфическая профилактика у восприимчивых животных. Применение моно- или поливалентных вакцин, содержащих как живые, так и инактивированные вирусы, является самым эффективным методом борьбы с заболеванием в очагах и эндемичных регионах. Среди указанных типов вакцин, ввиду определенных рисков, связанных с использованием живых вакцин, в том числе тератогенности, реверсии вирулентности, подавление иммунитета и генетической ассоциации серотипов, инактивированные вакцины считаются более безопасными и с успехом используются во многих европейских странах для контроля вспышек, снижения вирусемии и циркуляции вирусов.

В соответствии с требованиями МЭБ, вакцины против блутанга, должны вызывать иммунитет у привитых животных продолжительностью не менее года.

В связи с этим, целью диссертационной работы Жугунисова К.Д. являлось совершенствование технологии изготовления инактивированной бивалентной вакцины против ВБТ-4 и ВБТ-16 серотипов и изучение её иммуногенной эффективности на КРС и МРС.

Новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые в южном регионе Казахстана проведены мониторинговые исследования среди восприимчивых сельскохозяйственных животных, в ходе которых были получены абсолютно новые данные по эпизоотологическому



состоянию территорий, иммунному статусу животных и наличию циркуляции вируса среди домашних животных, находящихся на изучаемых территориях.

Диссертантом теоретически обоснованы и экспериментально выбраны наиболее эпидемически актуальные штаммы для включения в состав инактивированной вакцины, активно размножающиеся в различных типах тканевых культур с проявлением цитопатогенного действия, а также являющихся апоптогенными для животных и обладающие высокой иммуногенной активностью.

Также автором была подобрана чувствительная культура клеток для выращивания суспензионным методом вируса блутанга и определены оптимальные параметры культивирования вируса в чувствительной культуре клеток в суспензионных условиях для наработки вирусосодержащего материала в крупномасштабных объёмах, в которых на основе этих параметров был разработан лабораторный регламент для суспензионного культивирования вируса.

В результате проведённых экспериментов диссертантом подобраны оптимальные параметры инактивации вируса блутанга с применением бета-пропиолактона, максимально сохраняющие его антигенную активность. Проведены сравнительные эксперименты по подбору эффективного адьюванта с целью повышения иммуногенной эффективности инактивированной вакцины. При сравнительном изучении традиционного (гидроокись алюминия) и нового коммерческого масляного (Montanide™ ISA-71VG) адьюванта установлено, что по безвредности, реактогенности и иммуногенной эффективности новый коммерческий адьювант Montanide™ ISA-71VG доказал себя как иммуностимулирующее вещество и был включен автором в состав разработанной вакцины.

Впервые в Казахстане разработана технология изготовления бивалентной инактивированной эмульгированной вакцины против блутанга 4-го и 16-го серотипов с использованием нового коммерческого масляного адьюванта Montanide™ ISA-71VG, изучены её иммунобиологические свойства в опытах на КРС и МРС, а также дана оценка её протективной эффективности. Новая разработанная кандидатом вакцина являлась безопасной, иммуногенной и надёжной для целевых восприимчивых животных (овцы, козы и КРС) и вызывала напряженный иммунитет у вакцинированных животных на 10 сут с продолжительностью не менее 1 года.

Организовано и проведено внутри институтское комиссионное испытание, которое полностью подтвердило результаты проведённых выше исследований (Приказ Генерального директора НИИПББ № 139/09-06 от 06.04.2011 г., в период с 06.04.2011 г. по 30.09.2011 г.). Членами комиссии проверены технические характеристики и иммунобиологические свойства вакцины. Проверка иммунобиологических свойств показала, что вакцина соответствует требованиям, предъявляемым к инактивированным вакцинам для животных. На основе полученных результатов был оформлен и утверждён нормативно-технический документ на разработанный препарат.

Новизна исследований подтверждена 5 авторскими свидетельствами на изобретения, выданные Комитетом по правам интеллектуальной собственности МЮ РК (№№63210, 63307, 71197, 75809, 75814).

Оценка содержания диссертационной работы

Рецензируемая диссертационная работа построена традиционно, изложена на 196 страницах компьютерной машинописи и содержит введение, главу «Обзор литературы», главу с изложением результатов собственных исследований, выводы, практические рекомендации и приложение. Список использованной литературы состоит из 199 источников отечественных и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 29 таблицами, 36 рисунками, 10 приложениями.

Во введении автором обоснована актуальность исследования, отражена степень изученности проблемы, определены цель и задачи, новизна и практическое значение данного исследования.

Литературный обзор содержит определение болезни, её краткая историческая справка, распространение, заболеваемость и экономический ущерб при болезни, диагностика, биологические свойства и трансмиссия вируса, эпизоотическая ситуация в мире, а также описаны методы традиционной технологии приготовления вакцины против данной болезни.

В главе «Результаты собственных исследований» представлены результаты серологического исследования, проведённые на территории южного региона Казахстана. Это позволило определить иммунный статус животных, оценить эпизоотическую ситуацию в анализируемом регионе.

При выполнении раздела диссертации автором была усовершенствована существующая технология изготовления вакцины против блутанга, проведены исследования по выбору системы культивирования вируса, определены оптимальные условия культивирования, выбран инактивант и изучен режим инактивации, подобран оптимальный адъювант и изучены иммунобиологические свойства полученных образцов вакцин.

Дана подробная характеристика использованных методов исследования. Статистическая обработка проведена на персональном компьютере с помощью программы GraphPadPrism® версии 6.0.

В каждом разделе даётся анализ всей проведённой работы в сравнении с имеющимися литературными данными, даны заключение, практические рекомендации. Личное участие автора в получении научных результатов не вызывает сомнений. Полученные соискателем результаты и их научно-практическая значимость отвечают требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а также в полной мере соответствуют паспорту специальности 03.01.06 – биотехнология.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

Полученные диссертантом результаты и вытекающие из них выводы и заключения обоснованы исследованием большого объема фактического

материала. Оотработаны условия и технологические параметры крупномасштабного суспензионного культивирования вируса блутанга в культуре клеток ВНК-21, усовершенствованы условия инактивации вируса с использованием бета-пропиолактона в производственном объёме. Проведены исследования по сравнительной оценке эффективности адьювантов (Montanide™ ISA-71VG, гидроокись алюминия) для включения в состав инактивированной вакцины. Усовершенствованы технологии получения бивалентной инактивированной эмульгированной вакцины против блутанга и оценены ее безопасность и иммуногенность на МРС и КРС.

Положения, выносимые на защиту, отражают суть выполненной научной работы. Используемые методы исследования соответствуют поставленным целям и задачам, в работе использованы вирусологические, биотехнологические, химические, физико-химические, технологические, экспериментальные исследования.

Представленные цифровые материалы обработаны общепринятыми статистическими методами. Диссертант теоретически обосновал и разработал вакцинный препарат из эпидемически актуальных штаммов вируса блутанга.

Выводы отражают основное содержание диссертации и вытекают из проведённых исследований. Использование адекватных методов статистического анализа позволяет заключить, что обоснованность и достоверность основных положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций диссертационной работы Жугунисова К.Д. сомнений не вызывает.

На основании полученных данных можно утверждать, что диссертационная работа выполнена методически правильно, полученные данные подтверждены публикациями, патентами и внедрением вакцин в практику.

Оценка внутреннего единства полученных результатов.

Оценивая рецензируемую диссертацию в целом, следует отметить, что она построена по единому плану. Научные данные, полученные Жугунисова К.Д., характеризуются внутренним единством. Проведённые исследования направлены на достижение основной цели, а задачи для достижения поставленной цели определили закономерный ход и логику научных исследований автора.

Главы рецензируемой диссертационной работы логически взаимосвязаны, все разделы расположены последовательно, и каждый последующий вытекает из предыдущего. Полученные научные результаты логически взаимосвязаны, отражают решение задач и достижение поставленной цели.

Практическая значимость результатов исследования.

Проведённые диссертантом исследования и полученные научные результаты обладают высокой теоретической и практической ценностью. Для внедрения разработанной вакцины в производство разработан и утверждён в установленном порядке комплект НТД на вакцину, включающий Стандарт

организации на вакцину (СТ405-1919-04 ГП-070-2011), Временную инструкцию по изготовлению и контролю и Временное наставление по применению вакцины. Также оформлен и внедрён лабораторный регламент по суспензионному культивированию вируса блутанга.

Соответствие диссертации специальности.

Содержание диссертационной работы Жугунисова К.Д. на тему «Совершенствование средств профилактики и технологии приготовления вакцины против блутанга» соответствует специальности 03.01.06 – биотехнология.

Подтверждение достаточной полноты публикаций основных положений, результатов, выводов и заключения диссертации.

Основные результаты диссертационной работы Жугунисова К.Д. опубликованы в 11 научных работах, в том числе 2 статьи в журналах входящих в РИНЦ, 1 статья в журнале, рецензируемом Web of Sciences и 3 статьи в Перечне рецензируемых научных изданий, утверждённых президиумом ВАК Кыргызской Республики. По материалам диссертации получены 5 патентов на изобретения, выданные Комитетом по правам интеллектуальной собственности Министерство Юстиции Республики Казахстан. Характер и тематика опубликованных в открытой печати научных работ соответствуют профилю диссертации и достаточно полно отражают её содержание.

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, оформлен согласно существующим требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. В автореферате изложены актуальность темы, цели и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные результаты, выводы и практические предложения диссертации, показан вклад автора в проведенные исследования, исследований, а также отражены результаты диссертации в публикациях (научные статьи, патенты).

Недостатки по оформлению и содержанию диссертации

Работа выполнена на научно-методическом уровне, с использованием современных биотехнологических и вирусологических методов, поэтому серьезных замечаний по содержанию и оформлению работы нет. Вместе с тем, в диссертационной работе имеются отдельные замечания.

1. На странице 18 рисунок 1.1 где приведена схематическая иллюстрация вириона блутанга, объяснение дано на английском языке.

2. Диссертант приводит данные о 27 серотипах вируса, но по литературным данным имеется только 25 серотипов.

3. На странице 21 рисунок 1.3 цикл передачи ВБТ описан так же на английском языке.

4. В диссертационной работе отсутствует таблица 3.21, но есть таблица 7, возможно произошла ошибка.

5. В библиографическом списке диссертационной работы некоторые

источники приведены не по ГОСТу.

6. В тексте диссертации допущены некоторые стилистические ошибки и опечатки, которые не снижают научно-практическую ценность выполненной работы

Перечисленные замечания являются не существенными и не снижают ценность и практическую значимость диссертационной работы.

Соответствие диссертации предъявляемым требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Кыргызской Республики.

Диссертационная работа Жугунисова Куандыка Даулетбаевича на тему: «Совершенствование средств профилактики и технологии приготовления вакцины против блутанга» является самостоятельной законченной научной работой и вносит весомый вклад в развитие ветеринарной биотехнологии и вирусологии. По актуальности, научной новизне, практической значимости, степени достоверности и обоснованности научных результатов, рецензируемая диссертация не вызывает сомнений, оформлена в соответствии с требованиями ВАК КР, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и оценивается положительно. Диссертация включает в себя достаточный объем проанализированного экспериментального материала, написана стилистически грамотно, хорошо оформлена.

Принимая во внимание актуальность темы, объем научной и практической значимости выполненных исследований, считаю, что диссертационная работа полностью удовлетворяет положению, предъявляемым к кандидатским диссертациям «О порядке присуждения ученых степеней ВАК КР», а автор – Жугунисов Куандык Даулетбаевич заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология.

Официальный оппонент,
Заведующий лабораторией вирусологии и биотехнологии, КНИИВ им. А. Дуйшеева
кандидат биологических наук

А.Р. Нургазиева

Подпись к.б.н. Нургазиевой А.Р. заверяю:
Ученый секретарь КНИИВ им. А. Дуйшеева
кандидат ветеринарных наук, доцент

Е.Д. Крутская

